

KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11) Publication number: 1020030075492 A
(43) Date of publication of application: 26.09.2003

(21) Application number: 1020020014745
(22) Date of filing: 19.03.2002

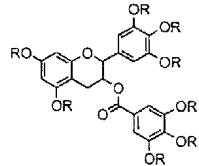
(71) Applicant: AMOREPACIFIC CORPORATION
(72) Inventor: AHN, SU MI
JANG, I SEOP
KIM, DEOK HUI
KIM, GIL JUNG
LEE, BYEONG SEOK

(51) Int. Cl C07D 405 /14

(54) EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE(EGCG) DERIVATIVES, PREPARATION METHOD THEREOF, AND COSMETIC COMPOSITION CONTAINING THE SAME

(57) Abstract:

PURPOSE: Epigallocatechin-3-gallate(EGCG) derivatives, a preparation method thereof, and a cosmetic composition containing the same compounds are provided, thereby inhibiting the active oxygen oxidation of the skin, inhibiting the formation of peroxide, so that the aging of the skin can be inhibited.
CONSTITUTION: Epigallocatechin-3-gallate(EGCG) derivatives represented by formula 1 are provided, wherein R is nicotinoyl, isonicotinoyl or picolinoyl. A method for preparing the epigallocatechin-3-gallate(EGCG) derivatives of formula 1 comprises the steps of: (1) reacting nicotinic acid with EGCG in organic solvent using dicyclohexylidimide and dimethylaminopyridine as coupling agents to prepare EGCG derivatives; (2) first purifying the EGCG derivatives using organic solvent; and (3) isolating and purifying first purified EGCG derivatives using ion exchange resin. A cosmetic composition contains the epigallocatechin-3-gallate(EGCG) derivatives of formula 1 in the amount of 0.001 to 20 wt.%.



copyright KIPO 2003

Legal Status

Date of request for an examination (20020319)

Notification date of refusal decision (00000000)

Final disposal of an application (registration)

Date of final disposal of an application (20040907)

Patent registration number (1004492280000)

Date of registration (20040908)

Number of opposition against the grant of a patent ()

Date of opposition against the grant of a patent (00000000)

Number of trial against decision to refuse ()

Date of requesting trial against decision to refuse ()

(19) 대한민국특허청(KR)

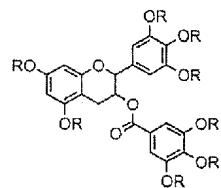
(12) 공개특허공보(A)

(51). Int. Cl.⁷
C07D 405/14(11) 공개번호 특2003-0075492
(43) 공개일자 2003년09월26일(21) 출원번호 10-2002-0014745
(22) 출원일자 2002년03월19일(71) 출원인 주식회사 태평양
서울 용산구 한강로2가 181(72) 발명자 김길중
경기도수원시팔달구영통동 청명주공아파트407동1102호김덕희
서울특별시서초구잠원동잠원체미리아파트2동902호안수미
경기도수원시팔달구원천동원천주공아파트103동708호이병석
서울특별시종로구평창동272번지평창아파트1동121호장이섭
경기도용인시수지읍풍덕천리703동보아파트102동1104호(74) 대리인 윤동열
이선희

(54) EGCG 유도체와 그 제조방법 및 이를 함유하는 화장료조성물

본 발명은 하기 화학식 1로 표현되는 에피갈로카테킨-3-갈레이트(epigallocatechin-3-gallate; 이하 'EGCG'라 한다) 유도체와 이의 제조방법 및 이를 함유하는 화장료 조성물에 관한 것으로서, EGCG와 니코틴산류를 1:8~10.4의 당량비로 커플링제 존재하에 유기용매에서 반응시켜서 EGCG 유도체를 얻는 것을 특징으로 한다.

[화학식 1]



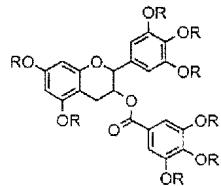
상기에서, R은 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)이다.

본 발명의 EGCG 유도체 화합물은 피부에 도포시 생체내에서 활성산소에 의한 산화작용을 억제하고, 과산화물의 생성을 억제하여 생체막의 노화를 방지하는 효과와 콜라겐 생합성을 촉진하는 효과를 갖는 물질로서, 피부에 대한 자극이 없을 뿐만 아니라 피부의 탄력상승, 피부노화의 예방 및 개선 효과가 있다.

EGCG 유도체, 니코틴산류, 니코티노일, 이소니코티노일, 피코리노일

본 발명은 하기 화학식 1로 표현되는 에피갈로카테킨-3-갈레이트(epigallocatechin-3-gallate; 이하 'EGCG'라 한다) 유도체와 이의 제조방법 및 이를 험유하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

[화학식 1]



상기에서, R은 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)이다.

(--) 에피갈로카테킨-3-갈레이트는 녹차의 카테킨 화합물 중에서 가장 많이 존재하는 물질로서, 다양한 효능을 가지는 것으로 알려져 있다. 특히, 피부에서 UV-B에 의해 유발된 염증반응, 흥반, 피부처짐, 파산화물 생성을 저해하며, 백혈구의 침투를 감소시키는 것으로 보고되었다. 이러한 다양한 효능으로 인해서 EGCG는 식품, 의약품 및 화장품에서 많은 응용연구가 이루어져 왔다.

그러나, EGCG는 대단히 불안정하며, 국단적인 친수성으로 인해 사용에 있어서 많은 제약을 받아온 것이 사실이다. 특히, 화장품원료로 사용함에 있어서는 경제적, 기술적인 이유로 인하여 아직 이렇다 할 안정화 방법이 개발되지 않은 관계로 다양한 분야에서의 적용이 많이 이루어지지 못하고 있었다.

EGCG를 화장품 등에 적용하기 위해서는 먼저 그 효능은 유지하면서 안정화 할 수 있는 방법 및 사용이 용이한 물성을 갖도록 하는 것이 필요한데, 안정화의 방법으로는 크게 고분자를 이용한 포집과 같은 물리적인 방법과, 보다 안정한 유도체로의 변형을 통한 화학적 방법이 있다. 특히, 화학적인 방법은 안정화 및 용해도의 개선을 동시에 이룰 수 있어서 많이 연구되어 왔으며, 구체적인 예로는 EGCG의 8개의 히드록시기를 전체 또는 부분적으로 알킬기나 아실기로 치환시킨 유도체가 있다. 그러나 이러한 화합물들은 직접 EGCG를 이용한 반응을 통하여 제조하는 것이 아니고, 화학적인 전합성 과정을 통하여 얻는 것이 일반적이어서 제조과정이 복잡하여 화장품에 적용하기에는 경제적으로 어려움이 있으며, 또한 이러한 방법은 EGCG를 안정하게는 할 수 있지만 알킬기로의 치환시에는 효능이 많이 감소하거나, 아실기로 치환시킨 물질인 경우 생체내에서의 분해시에 아세트산이나 벤조산 같은 유해물질이 생성되는 단점이 있었다.

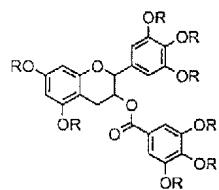
이에 본 발명자들은 위에서 상기한 EGCG 문제점을 해결하고자, EGCG를 출발물질로 하여 보다 안정하면서도, 다양한 효능을 가질 수 있는 유도체의 개발에 착수하게 되었다.

본 발명에서는 EGCG를 디시를로헬사카보디아이미드와 4-디메틸아미노피리딘의 존재, 유기용매하에서 니코틴산류와 반응시킴으로써 니코틴산류라는 또 다른 효능물질을 치화제로 사용하여, EGCG의 다양한 활성을 유지하면서 화장료

로의 사용에 제약이 없을 정도의 안정성을 부여하고, 생체내에서 분해시에도 독성이 없을 뿐만 아니라 유익한 활성을 가지도록 한 EGCG 유도체를 제공하고자 한다.

또한, 본 발명에서는 EGCG 유도체를 함유하는 화장료 조성물을 제공하고자 한다.

본 발명은 하기 화학식 1로 표현되는 신규한 EGCG 유도체 화합물에 관한 것이다.



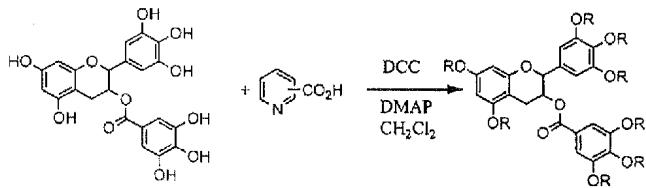
상기에서, R은 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)이다.

본 발명에서 제공되는 상기한 화학식 1로 표현되는 EGCG 유도체의 제조 방법을 살펴보면,

- 1) 유기용매에서 니코틴산류를 디시클로헥실디이미드와 디메틸아미노피리딘을 커플링제로 사용하여 EGCG와 반응시켜 EGCG 유도체를 생성시키는 단계;
- 2) 상기 1) 단계에서 생성된 EGCG 유도체를 유기용매를 이용하여 일차적으로 정제하는 단계;
- 3) 상기 2) 단계에서 일차적으로 정제한 EGCG 유도체를 이온교환수지를 이용하여 정제하는 단계;

를 포함한다.

본 발명에 따른 EGCG 유도체의 제조방법을 예를 들어, 다음의 반응식 1로 도식할 수 있다:



상기에서, R은 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)이다.

본 발명에 따른 EGCG 유도체의 제조방법을 보다 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

(1) 커플링제로서 디시클로헥실디이미드와 디메틸아미노피리딘의 존재하에 유기용매에서 EGCG와 니코틴산류를, 상온에서 10~20시간 교반하여 상기 화학식 1로 표현되는 EGCG 유도체를 제조하는 단계;

상기 단계에서 EGCG에 대해서 니코틴산류는 1:8~10.4의 당량비로 반응시키는 것이 바람직하다. 당량비가 1:8 미만이면 목적하는 생성물이외에도 8개의 히드록시가 부분적으로 치환된 생성물들이 부산물로서 얻어지고, 1:10.4 이

상이면 목적하는 생성물을 얻을 수는 있지만 이외에 과량의 부산물이 얹어져서 정제하는데 어려움이 있다. 또한 EGC G에 비해서 디시클로헥실디이미드는 1:8~12.4의 당량비로 반응시키는 것이 바람직하다. 당량비가 1:8 미만이면 미 반응물이 존재하며, 1:12.4 이상이면 역시 과량의 부산물이 생성되어 정제에 어려움이 있다. 디시클로헥실디이미드를 커플링제로 사용할 때 촉매로 함께 사용하는 디메틸아미노피리딘은 디시클로헥실디이미드에 대해서 0.1 당량비로 사용하는 것이 바람직하다. 상기한 방법으로 EGCG 유도체를 제조하는 경우, EGCG와 니코틴산류가 1:8로 결합한 생성물이 61% 이상 생성된다.

본 발명에서 사용하는 니코틴산류는 비타민 B3로 알려져 있으며, 생체내에서 많은 기능을 수행하고 있다. 피부에 도포시에도 항염 및 피부장벽기능을 증진시키며, 경피 수분 손실을 감소시키는 등 다양한 효능을 가지는 것으로 보고되었다(Br. J. Dermatol., 2000, 143, 524~531).

상기에서 커플링제로는 디시클로헥실디이미드, 카보닐디이미다졸, 디에틸 아조디카로복실레이트 등을 사용할 수 있으나, 디시클로헥실디이미드를 사용하는 것이 바람직하다.

상기에서 유기용매로는 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 초산에틸, 아세토니트릴, 클로로포름, 에틸에테르 등과 같은 비활성 용매를 사용할 수 있으나, 테트라히드로퓨란을 사용하는 것이 바람직하다.

(2) 유기용매를 이용하여 EGCG 유도체를 정제하는 단계;

상기의 (1) 단계에서 얻은 반응용액을 여과하여 침전물을 제거하고, 물로 씻어주어 존재하는 디시클로헥실디이미드를 가수분해시킴과 동시에 불순물을 제거하고, 무수 황산나트륨이나 무수 황산 마그네슘에서 건조시킨 다음, 용매를 제거한다. 여기에 클로로포름을 넣어 녹인 후 과량의 헥산을 적가하여 EGCG 유도체를 석출시킨 다음, 액상을 제거한다. 이 과정을 여러 번 수행하면 일차로 정제된 EGCG 유도체를 얻을 수 있다. 여기에서 사용되는 유기용매로는 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 초산에틸, 아세토니트릴, 클로로포름, 에틸에테르, 헥산, 에탄올, 메탄올 등과 같은 용매를 사용할 수 있으나 클로로포름과 헥산을 사용하는 것이 바람직하다.

(3) 이온교환수지를 이용하여 EGCG 유도체를 최종적으로 정제하는 단계

상기의 (2) 단계에서 얻은 EGCG 유도체를 이온교환수지를 이용하여 정제한다. 여기서 사용하는 수지로는 HP TM, SP800 TM, SP200 TM, Amberlite XAD TM, Sephadex TM (Diaion) 등을 사용할 수 있다. 수지의 양은 시료량의 3배 이상을 사용하는 것이 바람직하며, 용리용매로는 다양한 유기용매들을 사용할 수 있으나 아세톤과 헥산 혼합액을 사용하는 것이 바람직하다.

본 발명에 의한 제조방법에 의해 제조되는 EGCG 유도체는 피부에 도포시 생체내에서 활성산소에 의한 산화작용을 억제하고, 과산화물의 생성을 억제하여 생체막의 노화를 방지하는 효과와 콜라겐 생합성을 촉진하는 효과를 갖는 물질로서, 피부에 대한 자극이 없을 뿐만 아니라 피부의 탄력상승, 피부노화의 예방 및 개선 효과가 있다.

한편, 본 발명에 의한 화장료 조성물은 상기한 EGCG 유도체를 조성물 총 중량에 대하여 0.001~20 중량%의 양으로, 바람직하게는 0.01~5 중량%의 양으로 함유함으로써 피부탄력 증가와 노화 방지효과를 증가시킨다.

본 발명에 의한 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되지 않으며, 구체적인 예를 들면, 유연화장수, 영양화장수, 마사지크림 또는 영양 크림 등의 제형을 가질 수 있다.

또한, 본 발명의 화장료 조성물을 구성하는 EGCG 유도체는 제형에 따라서, 또한 목적하는 효과에 따라서 당업자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있다.

이하 실시예를 통하여 본 발명에 따른 EGCG 유도체의 제조방법을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 본 발명이 이를 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[실시예 1] EGCG 유도체의 제조

니코틴산 11.8g(96 mmol), 디시클로헥실디이미드 19.8 g(96 mmol), 디메틸아미노피리딘 1.17g(9.6 mmol)을 테트라히드로퓨란 100mL에 넣고 상온에서 30분간 교반한 후에 EGCG 4.58g(10 mmol)을 적가한 후 20시간 교반하였다. 반응물의 완전한 소멸을 확인한 후 여과하여 침전물을 제거하였다. 용액을 물로 3번 세척하여 잔류하는 디시클로헥실디이미드를 가수분해시킴과 동시에 불순물을 제거하였다. 유기층을 분리한 후, 무수 황산마그네슘에서 탈수시키고, 여과후, 용매를 제거하였다. 여기에 클로로포름 50mL를 넣어 생성물을 녹인 다음, 헥산 150mL를 서서히 적가하여 EGCG 유도체를 석출시켰다. 액상을 분리해 과량의 디시클로헥실우레아 등을 제거하였다. 이러한 과정을 2번 더 반복하여 일차적으로 EGCG 유도체를 정제하였다. 여기서 얻어진 EGCG 유도체를 HP20로 정제하여 순수한 EGCG 유도체

(7.98 g, 61%)를 얻었다.

FAB-MS (m/z) 1299 ($M^+ + 1$, 3.60), 225 (15.71), 106 (100), 78 (24.77).

[시험 예 1]

기니아파그(Guinea pig)의 등 부위를 제모한 후 1%의 EGCG 유도체를 $120\mu\text{l}$ 로 24시간 첨포한 다음 자외선(UVB) 500mJ/cm²를 조사하였다. 자외선 조사 18시간 후 피부를 생검하였다. 피부를 갈고 원심분리하여 상동액을 취해 실험에 사용하였다. 과산화지질의 정량은 조직상등액을 1% 티오바비투르산(thiobarbituric acid, TBA)과 반응시킨 다음, 형광스펙트로포토미터를 이용하여 여기(excitation) 515nm, 방출(emission) 553nm에서 형광도를 측정하고 표준물질로 1,1,3,3-테트라에톡시 프로판(tetraethoxy propane, TEP)을 사용하여 표준곡선을 작성, 과산화지질을 비교정량하였다(Biochem. Med., 1976, 15, 212-216). 실험결과는 아래의 표 1과 같다.

물질	저해율 (%)
대조군	0
EGCG 유도체	31

[시험 예 2]

무모생쥐에 1%의 EGCG 유도체를 $100\mu\text{l}$ 씩 매일 오전에 도포하고 오후에 100 mJ/cm²의 자외선(UVA)을 조사하는 방법으로 10주간 지속하였다. 대조군은 EGCG 유도체를 도포하지 않고 자외선만 조사하였다. 각 군은 10마리씩 사용하였다. 2달 후 생검하여 조직을 취하고 타입 1 pN 콜라겐을 이용하여 면역염색을 시행하였다. 이 염색법을 이용하여 새로 합성되는 콜라겐의 양을 측정할 수 있다. 각 시료를 1 내지 5등급으로 판정하고(1이 최고, 5가 최저) 생성율을 구하였다(N Engl. J. Med., 1993, 329, 530-535. Eur. J. Biochem., 1983, 134, 183-189). 실험결과는 아래의 표 2와 같다.

물질	생성율(%)
대조군	15
EGCG 유도체	35

[시험 예 3] EGCG 유도체의 안전성

화장료의 원료는 인체에 사용되기 때문에 무엇보다도 인체에 대한 안전성이 중요하다. 본 발명자는 EGCG 유도체의 인체에 대한 독성 및 자극성 유무를 아래와 같은 실험을 거쳐 화장료로서 독성과 자극이 없는 원료임을 확인하였다. 안전성 실험은 스쿠알란에 10% 농도로 만든 용액을 가지고 수행하였다.

3-1] 급성경구 독성실험(Acute oral toxicity test in mice) : EGCG 유도체 $1\text{ml}/\text{kg}$ 을 암수 각 5마리씩 10마리의 쥐에 투여한 결과 사망동물은 관찰되지 않았고 투여 전후의 체중변화도 유의할 차이가 관찰되지 않았다.

3-2] 급성경피 독성실험(Acute dermal toxicity test in mice and rabbits) : EGCG 유도체 $0.2\text{ml}/\text{kg}$ 을 암수 각 5마리씩 10마리의 쥐에 1회 경피투여하고 2주간 일반 증상, 체중변화를 관찰한 결과 전 투여 군에서 이상증상이 관찰되지 않았다. 같은 방법으로 토끼에게 실시한 결과 이상이 관찰되지 않았다.

3-3] 피부 1차 자극 실험(Primary skin irritation test) : 토끼 12마리에 시험물질 적용 24시간 전에 등 부위의 털을 제거하고 2.5cm 넓이에 0.1㎖ 씩 24시간 동안 도포하여 관찰하였다. 관찰 결과 자극이 없는 것으로 판정되었다.

3-4] 안점막 자극 시험(Eye irritation test) : 토끼 9마리에 2% 농도로 식염수(saline)에 희석하여 동물 1마리당 0.1㎖씩 눈에 투여하였다. 실험 결과 각막, 홍채, 결막에 대한 특별한 안점막 자극 반응을 나타내지 않았다.

3-5] 피부 감작성 실험(Skin sensitization test) : 기니아 퍼그 암수 각 3 마리씩 6마리에 매그너슨(Magnusson)과 클리그만(Kligman)의 시험방법에 따라 실시한 결과 홍반, 부종, 가피 형성 등의 피부이상 증상은 관찰할 수 없었다.

3-6] 인체 첨포 실험(Human patch test) : 20~28세의 건강한 여성 30명을 대상으로 CTFA 가이드라인(The Cosmetic Toiletry and Fragrance Association, INC, Washington, D. C. 20036, 1991. 참조)에 따라 인체 첨포 실험을 실시하였다. 결과 피부일차 자극 반응은 나타나지 않았다.

3-7] 누적 자극성 실험(Repeat Insult Human Patch Test) : 인체 첨포 실험 대상자에게 CTFA 가이드라인에 따라 실험한 결과 누적 자극 반응 및 감작 반응이 나타나지 않았다.

이상의 독성 및 피부에 대한 안전성 실험에서 EGCG 유도체는 피부 외용제로서 안전한 물질임을 확인할 수 있었다.

[시험 예 4] 안정성 시험

안정성 시험은 실시예 1의 EGCG 유도체 화합물과 EGCG를 각각 3g을 달고, 디메틸 셀록시드 100㎖에 녹였다. 60°C 항온조에 보관한 후 6개월간 경시 변화를 관찰하였다.

기간(개월)	1	2	3	4	5	6
실시예 1	100	100	97	97	95	95
EGCG	80	63	50	47	34	12

물 질	경과 시간 (월)					
	1	2	3	4	5	6
실시예 1	-	-	-	-	-	+
EGCG	+	++	++	+++	+++	+++

착색 : - : 미황색

+ : 착색 소

++ : 착색 중

+++ : 착색 대

[제형 예 1] 크림제형

성분

용량(중량%)

ECCG 유도체	0.02
유동파라핀	15.0
세토스테아릴알코올	2.0
밀납	3.0
메틸폴리실록산	0.5
친유형모노스테아린산 스테아레이트	2.0
스테아린산	2.0
소리비탄세스퀴올레이트	0.8
모노스테아린산	1.0
폴리옥시에틸렌소르비탄	1.2
메틸파라벤	0.2
프로필파라벤	0.1
향료	0.2
EDTA.2Na	0.02
글리세린	5.0
프로필렌글리콜	5.0
트리에탄올아민	0.2
이미다졸리디닐우레아	0.3
정제수	to 100

[제형 예 2] 로션제형

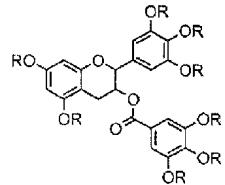
성분	용량(중량%)
ECCG 유도체	0.02
멀티왁스	3.5
스테아린산	0.5
유동파라핀	5.0
디하이데그왁스	0.8
비왁스 17	0.05
니콜 MGS-B	1.9
아라셀 165	0.7
글리세린	7.0
메틸파라벤	0.12
프로필파라벤	0.03
리퀴드파라벤	5.0
트원 60	0.5
카보머	0.12
정제수	to 100

이상에서 설명한 바와 같이 본 발명에 따른 EGCG 유도체는 안정한 물질이며, 피부 광노화 억제 및 자외선 방어 효과가 우수하였다.

청구항 1.

하기 화학식 1로 표현되는 신규의 EGCG 유도체 화합물:

[화학식 1]



상기에서, R은 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)이다.

청구항 2.

1) 유기용매에서 니코틴산류를 디시클로헥실디이미드와 디메틸아미노피리딘을 커플링제로 사용하여 EGCG와 반응시켜 EGCG 유도체를 생성시키는 단계;

2) 상기 (1) 단계에서 생성된 EGCG 유도체를 유기용매를 이용하여 일차적으로 정제하는 단계;

3) 상기 (2) 단계에서 일차적으로 정제한 EGCG 유도체를 이온교환수지를 이용하여 분리 정제하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 화학식 1로 표현되는 EGCG 유도체를 제조하는 방법.

청구항 3.

제 2항에 있어서, 상기 니코틴산류가 니코티노일(Nicotinoyl), 이소니코티노일(isonicotinoyl) 또는 피코리노일(picolinoyl)인 것을 특징으로 하는 EGCG 유도체를 제조하는 방법.

청구항 4.

제 1항에 기재된 화학식 1로 표현되는 EGCG 유도체를 조성물 총 중량에 대하여 0.001~20 중량%의 양으로 함유하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.